

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Ing. Markéta Pilneyová**

## **Koexistence cytotypů v rostlinných populacích, její mechanismy a vývoj v čase**

(Cytotype coexistence in plant populations, its mechanisms and temporal perspectives)

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Martin Čertner, Ph.D.

Praha, 2018

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala především svému školiteli Martinu Čertnerovi za cenné rady při vypracování této bakalářské práce a dále všem, kdo mě při psaní této práce podporovali.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 8. 2018

Podpis

## **ABSTRAKT**

Smíšené populace různých cytotypů jsou ideálním modelovým systémem pro studium vlivu duplikace genomu na rostliny. Srovnáním polyploidů s jejich diploidními předky lze odhalit, jaké změny polyploidizace způsobuje na úrovni jedinců i populací, a jaká je její role v evoluci. V této rešerši se zabývám mechanismy, které ovlivňují koexistenci různých cytotypů ve smíšených populacích. Popisuji nevýhodu malých čísel a různé reprodukční bariéry mezi cytotypy (prostorová segregace cytotypů, květní fenologie, chování opylovačů, autogamie, kompetice gametofytů, triploidní blok) i vlivy okolí na smíšené populace (disturbance, migrace). Zvláště se zabývám vytrvalostí smíšených populací v čase, protože ta je zásadní pro porozumění polyploidizaci jakožto evolučnímu procesu.

klíčová slova: koexistence cytotypů, nevýhoda malých čísel, nenáhodné opylení, prostorová segregace cytotypů, časový vývoj

## **ABSTRACT**

Mixed-ploidy populations, consisting of multiple cytotypes, are an optimal model system for studying the consequences of genome doubling in plants. By comparing the polyploids with their diploid ancestors, we can discover the changes caused by polyploidization on both individual and population levels as well as understand the role polyploidization plays in plant evolution. In my thesis, I address the mechanisms affecting the coexistence of multiple cytotypes in mixed-ploidy populations. Minority cytotype exclusion principle and different breeding barriers between cytotypes (cytotype segregation, flowering phenology, pollinator fidelity, autogamy, gametophyte competition, triploid block) along with the effect of environment (disturbance, migration) on mixed-ploidy populations are described in this thesis. Particularly, I focus on the temporal persistence of mixed-ploidy populations due to its crucial role for our understanding of the polyploidization as an important evolutionary process.

key words: cytotype coexistence, minority cytotype disadvantage, assortative mating, spatial segregation of cytotypes, temporal development

## OBSAH

1.	Úvod.....	1
2.	Vznik polyploidů.....	2
3.	Faktory ovlivňující koexistenci cytotypů ve smíšených populacích.....	4
3.1	Rozdíly v konkurenceschopnosti a fertilitě cytotypů.....	5
3.2	Nenáhodné párování.....	7
3.2.1	Prostorová segregace.....	7
3.2.2	Fenologie cytotypů.....	12
3.2.3	Chování opylovačů.....	14
3.2.4	Autogamie.....	17
3.2.5	Kompetice gametofytů.....	18
3.3	Asexuální rozmnožování.....	19
3.4	Opakovaný vznik polyploidů.....	21
4.	Stabilita smíšených populací v čase.....	23
5.	Závěr.....	28
6.	Seznam použité literatury.....	30

# 1 Úvod

Polyplloidizace, tedy znásobení obsahu DNA v buňkách na více než dvě kompletní sady chromozomů, je významným evolučním procesem, kterým mohou nové rostlinné druhy vznikat okamžitě v sympatrii se svými diploidními předky (Coyne and Orr, 2004; Soltis et al., 2009). Tento proces je obzvlášť významný u kaprad'orostů a krytosemenných rostlin (Wood et al., 2009). Dnes je zřejmé, že bez ohledu na velikost genomu, alespoň jednou polyploidizací prošly v evoluci všechny současné rostlinné druhy (Weiss-Schneeweiss et al., 2013).

Tento evoluční proces lze studovat u rostlinných druhů, u nichž k polyploidizaci došlo relativně nedávno a stále si tak udržují alespoň dva různé cytotypy. Z genetických studií vyplývá, že takových rostlin by mohlo být asi 16 % (Rice et al., 2015). Ideální podmínky pro studium polyploidizace pak nabízí smíšené populace různých cytotypů (Kolář et al., 2017). Jejich průzkumem lze získat informace o frekvenci a rozmístění cytotypů, fenotypových a ekologických změnách po multiplikaci genomu, historii vzniku polyploidů či kolonizaci území jednotlivými cytotypy. Lze také získat představu o genovém toku mezi jednotlivými cytotypy (Chapman and Abbott, 2010).

Cílem této práce je popsat mechanismy, které ovlivňují koexistenci cytotypů ve smíšených populacích. Zmiňuji zde prezygotické (prostorová segregace cytotypů, květní fenologie, chování opylovačů, autogamie, kompetice gametofytů) i postzygotické reprodukční bariéry (triploidní blok) a také okolní vlivy zasahující do vývoje smíšených populací (disturbance, migrace). Pro lepší porozumění mechanismům koexistence cytotypů je ale nezbytně nutné sledovat časový vývoj těchto smíšených populací. Přesto tomuto tématu zatím nebyla věnována dostatečná pozornost.

## 2 Vznik polyploidů

Polyploid je jedinec s více než dvěma kompletními sadami chromozómů v jádrech svých somatických buněk. Polyploidy můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin podle způsobu jejich vzniku (Ramsey and Schemske, 1998). Autopolyploidi vznikají duplikací genomu v rámci jednoho druhu a mají tak čtyři homologické sady chromozómů, které v průběhu meiotického dělení tvoří multivalenty. Naproti tomu allopolyploidi vznikají při duplikaci genomu spojené s hybridizací mezi dvěma různými druhy, jejich genom tak tvoří dva subgenomy a při meióze dochází jen k tvorbě bivalentů. V textu se dále zabývám převážně autopolyploidy.

Autopolyploidi mohou vznikat dvěma cestami. Bilaterální cesta, tedy splynutí dvou neredukovaných gamet (vaječná buňka a spermatická buňka se somatickým počtem chromozómů), je velmi málo pravděpodobná. Mnohem pravděpodobnější je unilaterální cesta, kdy nejdříve vznikne intermediární cytotyp (triploid) díky splynutí jedné redukované a jedné neredukované gamety diploida (Ramsey and Schemske, 1998). Intermediární cytotyp se následně zpětně kříží s diploidem nebo dojde k přenosu pylu mezi dvěma intermediárními jedinci a vzniká polyploidní potomstvo. Tento evoluční proces se označuje tzv. triploidní most a předpokládá se, že je nejčastějším způsobem vzniku nových polyploidů (Husband, 2004). To ale může nastat jen, pokud je triploid, respektive jiný intermediární cytotyp, alespoň částečně fertilní. Intermediární cytotypy ale často mívají sníženou nejen fertilitu, ale i životaschopnost. Jsou-li triploidní jedinci výrazně méně životaschopní než diploidní a tetraploidní, tuto situaci označujeme jako triploidní blok (Levin, 2002).

Areály druhů, které jsou tvořeny alespoň dvěma dominantními cytotypy (tj. hojně rozšířenými, opakem minoritní cytotypy s frekvencí v populacích  $< 20\%$ ), se mohou lišit prostorovým uspořádáním cytotypů v nich (Petit et al., 1999). Pokud je areál tvořen dvěma (či více) nesousedícími menšími subareály obývanými jen jedním cytotypem a cytotypy jsou tedy zcela izolované, mluvíme o alopatrii. Druhů, kde cytotypy nemají žádný kontakt, je ale málo, jen asi 4 % dostatečně prozkoumaných cytotypově variabilních druhů (Kolář et al., 2017). Častěji cytotypy tvoří kontaktní zóny (Levin, 2002). Tvoří-li cytotypy v kontaktní zóně převážně cytotypově uniformní populace, zatímco smíšené populace jsou vzácné, mluvíme o parapatrii (Petit et al., 1999). Parapatrie může být realizována na velké prostorové škále, kdy existuje víceméně jasná prostorová hranice, kterou jednotlivé cytotypy svým výskytem nepřekračují a na jejímž pomezí se nachází vzácné smíšené populace. Areály tohoto typu se

vyskytují u 39 % studovaných druhů (Kolář et al., 2017). Parapatricie ale může být i mozaikovitá, kdy jsou cytotypově uniformní populace v prostoru promíchané spolu s malým množstvím populací smíšených. Toto uspořádání má 30 % dobře prostudovaných druhů a je typické pro případy kdy se cytotypy liší svými ekologickými požadavky (Kolář et al., 2017). Naopak pokud spolu různé cytotypy často koexistují ve smíšených populacích (nezřídka jsou smíšené a uniformní populace zastoupeny ve srovnatelném počtu), mluvíme o sympatrii. Sympatrie byla zaznamenána ve 27 % případů (Kolář et al., 2017).

Kontaktní zóny se mohou kromě své prostorové struktury lišit ještě způsobem vzniku. Vznikne-li polyploid v diploidní populaci a začne se šířit, dochází k primárnímu kontaktu mezi cytotypy a vzniká tedy primární kontaktní zóna (Petit et al., 1999). V ní jsou cytotypy geneticky homogenní a liší se jen ploidii. Ke kontaktu ale může dojít také sekundárně, poté co byly cytotypy nějakou dobu prostorově separované a změna podmínek způsobila opětovné prolnutí jejich areálů nebo polyploid vznikl na jiném místě v době, kdy byl areál diploida alopatrický a do oblasti kontaktní zóny se rozšířil díky druhotné expanzi. V tomto případě jsou cytotypy zpravidla geneticky diferencované, což se v praxi používá k rozpoznání sekundárního kontaktu.



### 3 Faktory ovlivňující koexistenci cytotypů ve smíšených populacích

Proporční zastoupení jednotlivých cytotypů v populaci je její velmi důležitou charakteristikou. Již na základě znalosti frekvence jednotlivých cytotypů lze relativně předvídat budoucí vývoj cytotypově smíšené populace. Je-li jeden z cytotypů v menšině, je pravděpodobné, že jeho zastoupení bude v dalších generacích dále klesat a mohl by časem úplně vymizet. Tento fenomén popsal už Levin (1975) a označil jej jako „minority cytotype exclusion principle“, já budu v textu dále používat český ekvivalent nevýhoda malých čísel.

Ve svém modelu Levin predikuje časový vývoj smíšené populace diploidů a tetraploidů za předpokladu, že křížení mezi těmito cytotypy je neefektivní a do dalších generací tedy přežívají jen jedinci vzniklí splynutím gamet jedinců stejného cytotypu. Neživotaschopnost hybridů je dána inkompatibilitou mezi samčími a samičími gametami pocházejícími z jedinců rozdílné ploidie, která vede k aborci semen. Jsou-li cytotypy náhodně rozmístěné v prostoru a dochází-li k náhodnému přenosu pylu, bude vývoj populace záležet pouze na počátečních frekvencích cytotypů. Cytotyp, který je v menšině, bude z populace během několika generací vyloučen, protože velká část jeho vajíček nebude oplozena pylem příslušné ploidie, čímž se výrazně omezí podíl životaschopných semen, a v důsledku toho bude jeho frekvence v populaci neustále klesat. V Levinově modelu došlo i v případě na první pohled příznivého počátečního poměru cytotypů 60:40 k vyloučení méně početného cytotypu již během čtyř generací. Možnost dlouhodobé koexistence cytotypů by byla teoreticky uskutečnitelná pouze v případě jejich přesného poměru 1:1. Taková rovnováha by ale byla zřejmě nestabilní a jakékoli vychýlení by vedlo k nevratnému vyloučení početně znevýhodněného cytotypu. Je zřejmé, že za takových podmínek by bylo uchycení nově vzniklých polyploidů prakticky nemožné, neboť se v mateřských populacích objevují ve velmi nízkých počtech a docházelo by k jejich vyloučení během jedné nebo několika málo generací.

Snížení počtu semen v závislosti na frekvenci cytotypů v populaci, dokládající působení nevýhody malých čísel, bylo zaznamenáno v několika studiích. Například u srhy říznačky (*Dactylis glomerata*) byl počet životaschopných semen ve vysazených smíšených populacích poloviční v porovnání s cytotypově uniformními populacemi (Maceira et al., 1993). Také v cytotypově smíšených populacích vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) došlo ke snížení počtu semen diploidů s rostoucí frekvencí tetraploidů v experimentálních plochách (Husband, 2000). U pryskyřníku *Ranunculus adoneus* došlo u jednotlivých tetraploidních

rostlin přesazených do diploidní populace k výraznému snížení počtu semen ve srovnání s kontrolní transplantací tetraploidních jedinců do jiné tetraploidní populace (Baack, 2005).

V přírodních podmínkách ale budou cytotypy zřídka vykazovat vlastnosti a uspořádání jaké ve svém modelu Levin předpokládal. Rozmístění cytotypů v populacích nemusí být náhodné, pravděpodobnost přenosu pylu mezi různými jedinci se může lišit a gamety rozdílné ploidie spolu mohou splývat za vzniku triploidních hybridů, kteří mohou být životaschopní a někdy i alespoň částečně fertilní.

Ve skutečnosti tedy frekvenci cytotypů a její vývoj mezi generacemi ovlivňuje velké množství různých faktorů. Některé z nich, jako například nevýhoda malých čísel a kompetice o zdroje mezi cytotypy, omezují vytrvalost smíšených populací. Jiné mají kladný efekt a pomáhají smíšené populace stabilizovat. Sem patří nenáhodné párování a asexuální rozmnožování. Nicméně vliv řady dalších faktorů ale není jednoznačný a nelze snadno predikovat, záleží na kontextu konkrétních populací, zda koexistenci cytotypů pomohou nebo jí budou bránit. Mezi potenciálně oboustranně působící faktory patří opakovaný vznik polyploidů, genetický drift, disturbance či migrace.

### **3.1 Rozdíly v konkurenceschopnosti a fertilitě cytotypů**

Duplikace genomu může vést k okamžitým projevům, které mohou způsobit vyšší konkurenceschopnost a tedy i úspěšnost jednoho z cytotypů. O diploidech se často tvrdí, že rostou pomaleji (Levin, 2002). To může v případě jednoletých druhů vést k rychlému obsazení plochy a potlačení polyploida. Polyploidi by ale na druhou stranu mohli dosahovat větší velikosti (Levin, 2002), díky níž by mohli efektivněji získávat zdroje a omezit jejich dostupnost pro blízko žijící menší diploidy.

U starčku *Senecio carniolicus* s ploidní úrovní roste velikost rostlinných orgánů (Sonnleitner et al., 2016). Větší výšku stébla a delší i širší listy mají také nonaploidi vousatky *Andropogon gerardii* ve srovnání s hexaploidy stejného druhu (Keeler and Davis, 1999). Také u štírovníku *Lotus alpinus* jsou tetraploidi celkově větší než diploidi (Gauthier et al., 1998), a to jak ve vegetativních znacích (výška stonku, délka a šířka listů), tak i v květních znacích (délka kalichu, korunních lístků, semeníku, počet květů v květenství).

Ve většině případů jsou ale fenotypové rozdíly mezi cytotypy spíše nepatrné a na první pohled nerozlišitelné. Rozdíly jsou totiž obvykle patrné až při statistickém zpracování

naměřených dat (nezřídka na rostlinách v kultivaci) a bývají tedy k rozlišení cytotypů v terénu nepoužitelné.

Diploidi z okruhu srhy říznačky (*Dactylis glomerata*) v Galicii rostou v řídkém bylinném patře lesů, ale tetraploidi v biotopech s hustší vegetací a tedy větší mezidruhovou konkurencí (Lumaret et al., 1987). Kompetiční schopnost těchto rostlin byla testována v experimentu s různou hustotou rostlin v květináči v cytotypově uniformních i smíšených skupinách (Maceira et al., 1993). V tomto experimentu se ukázalo, že tetraploidi jsou mnohem kompetičně zdatnější než diploidi. Při výsadbě jedné jediné rostliny do květináče cytotypy vypadaly podobně, ale při vyšších hustotách vykazovali diploidi větší mortalitu a sníženou schopnost reprodukce. Tetraploidi měli navíc větší semena, větší semenáčky, rychlejší produkci listů na jaře a také dříve kvetli. K větší kompetiční schopnosti tetraploidů pravděpodobně přispívá i vyšší alelická diverzita, heterozygotita a využití většího množství metabolických drah k syntéze sekundárních metabolitů proti diploidům. Na rozdíl od předchozího příkladu, u tetraploidů pryskyřníku *Ranunculus adoneus* v Coloradu (Baack, 2005) ani u hexaploidů hvězdnice chlumní (*Aster amellus*) na severu České republiky (Münzbergová, 2007) nebyla vyšší kompetiční zdatnost v porovnání s diploidy potvrzena.

Vlivem nezávislé lokální adaptace cytotypů může později dojít také ke změně ve vztazích k jiným organismům, například se může vytvořit vyšší odolnost vůči parazitům (nemocem) či herbivorům nebo se mohou změnit mutualistické vztahy.

Na rostlinách pěstovaných v přirozených podmínkách v oblasti kontaktní zóny ve Španělsku se ukázalo, že hexaploidi bažanky roční (*Mercurialis annua*) jsou odolnější proti houbě *Melampsora pulcherima* než diploidi (Buggs and Pannell, 2007), tento rozdíl, jakkoliv patrný ale nebyl statisticky signifikantní. U prhy *Arnica cordifolia* v Coloradu jsou tetraploidi napadáni dvoukřídlým hmyzem z čeledi vrtulovitých *Campiglossa footeorum* výrazně častěji než triploidi (Kao, 2008). Důvod není znám, ale mohl by souviset s dřívějším kvetením triploidů či s rozdíly v morfologii květenství mezi cytotypy. U dlužichy *Heuchera grossulariifolia* ve Spojených státech amerických došlo dokonce k rozlišení herbivorů mezi cytotypy, kdy diploidi jsou více napadáni motýli druhu *Greya piperella*, ale tetraploidi druhem *Greya politella* a *Eupithecia misturata* (Nuismer and Thompson, 2001). Z experimentální studie neinokulovaných a inokulovaných rostlin hvězdnice chlumní (*Aster amellus*) je zřejmé, že u hexaploidů došlo ke snížení potřeby interakce s arbuskulárními

mykorhizními houbami (*Glomus intraradices*, *G. mosseae*), zatímco diploidi na ní byli silně závislí (Sudová et al., 2010).

Vhodnou skupinou pro studium vlivu polyploidizace na mykorhizu jsou orchideje, neboť jsou na ní všechny závislé ve stadiu semenáčků a velká část druhů i v dospělém stavu. Nárůst velikosti genomu může způsobit zvýšené požadavky na příjem dusíku a fosforu, což může být důvod k upřednostnění jiných, efektivnějších mykorhizních symbiontů. Rozdílní mykorhizní symbionti byli nalezeni u diploidů a tetraploidů pětiprstky žežulníku (*Gymnadenia conopsea*) v Bílých Karpatech a to obzvlášť na místech, kde spolu oba cytotypy rostly ve smíšených populacích (Těšitelová et al., 2013). Diploidní a tetraploidní rostliny měly až na jednu výjimku rozdílné symbiotické partnery – nejčastější u diploidů byl v 64,7 % případů taxon z čeledi Tulasnellaceae, zatímco u tetraploidů v 59,4 % případů jiný taxon z této čeledi. Triploidi byli ve většině případů asociováni s nejčastějším symbiontem diploidů, ale ve 20 % případů také s nejčastějším symbiontem tetraploidů. To může souviset s různými způsoby vzniku triploidů (splnutí redukované a neredukované gamety diploidů nebo hybridizace diploidů s tetraploidy). Změna mykorhizických partnerů sice nemůže přímo zabránit křížení mezi různými cytotypy, ale může přispět ke zvýšenému shlukování cytotypů stejné ploidie na místech, kde se symbiotická houba nachází, či ovlivnit konkurenceschopnost cytotypů. Shlukování bylo u pětiprstky i popsáno (Trávníček et al., 2011a) a zvyšuje pravděpodobnost přenosu pylu správné ploidie na bliznu, díky tendenci opylovačů přelétat na krátké vzdálenosti, nejčastěji mezi sousedními rostlinami. Změna mykorhizických vztahů tak může ve výsledku podpořit dlouhodobou koexistenci cytotypů.

## **3.2 Nenáhodné párování**

Existuje více různých příčin, které mohou vést k tomu, že přenos pylu mezi jedinci v populaci (a tedy i mezi různými cytotypy) nebude úplně náhodný, jak předpokládal Levinův model. Tato skutečnost pak může zvyšovat pravděpodobnost páření mezi jedinci stejného cytotypu, omezit vznik hybridů a s ním i frekvenčně závislou selekci proti méně početným cytotypům.

### **3.2.1 Prostorová segregace**

Nejčastějším scénářem je, že cytotypy nejsou rovnoměrně rozloženy v prostoru a dochází k jejich prostorové segregaci na různých škálách. Takové uspořádání může být zapříčiněno rozrůzněním ekologických nik mezi cytotypy, historickou kolonizací území cytotypy, klonálním rozmnožováním či limitovanými schopnostmi druhu se šířit (Kolář et al., 2017).

K prostorové segregaci dochází například mezi diploidy a hexaploidy vysokohorského starčku *Senecio carniolicus* ve východních Alpách (Hülber et al., 2009). Hexaploidi se zde nachází v zapojenějších a druhově bohatších společenstvech (alpínské louky a keříčková společenstva), rozvolněnější vegetace ve vyšších polohách (skalnatá místa exponovaná větru s krátkodobou nebo žádnou sněhovou pokrývkou) svědčí naopak spíše diploidům (Schönswetter et al., 2007). U tohoto druhu tak patrně došlo k rozrůznění ekologických nik cytotypů. Není však jasné, zda hexaploidi jsou více konkurenceschopní a tak snáze tolerují přítomnost dalších druhů, nebo jestli jsou náchylnější k abiotickému stresu a proto se nevyskytují ve vyšších nadmořských výškách.

Ve Španělsku (Galicii) se diploidi z okruhu srhy říznačky (*Dactylis glomerata*) vyskytují v řídkém bylinném patře lesních společenstev (zachovalé světlé doubravy polopřirozeného původu), tetraploidi naproti tomu osidlují otevřenější a lidskou činností ovlivněná stanoviště (louky, pastviny). Již při pozorováních v terénu bylo patrné, že každý z cytotypů vykazuje sníženou schopnost kvetení, pokud se nachází v prostředí typickém pro výskyt druhého cytotypu (Lumaret et al., 1987).

Populace cytotypů metlice trsnaté (*Deschampsia cespitosa*) ve Velké Británii mají podobnou distribuci. Diploidi se vyskytují převážně ve starých zachovalých lesích, zatímco tetraploidi podél cest, na loukách a pastvinách či v dalších travinných společenstvech, v lesích jen málo a spíše v těch člověkem silně ovlivněných. Rozdíly v ekologii obou cytotypů by mohly být dosti silné, aby minimalizovaly jejich společný výskyt na jednom stanovišti. Nalezeny byly totiž jen tři smíšené populace (Rothera and Davy, 1986).

Diploidi ovsíku vyvýšeného (*Arrhenatherum elatius*) ve španělské části Pyrenejí upřednostňují borové lesy a sutě v horách, ale tetraploidi se vyskytují v nižších nadmořských výškách jako dominanta travinných společenstev (Petit et al., 1997). Také u endemita jihovýchodu USA *Galax urceolata* se diploidi vyskytují v biotopech s převahou dřevin, avšak tetraploidi v převážně bylinných společenstvech (Johnson et al., 2003).

V Kalifornii můžeme nalézt dva cytotypy řebříčku *Achillea borealis* (Ramsey, 2011). Tetraploidi se vyskytují v zapojených travinných společenstvech, zatímco hexaploidi rostou na písčných dunách. Rozdíly v ekologických podmínkách stanovišť osidlovaných těmito cytotypy jsou velmi kontrastní, což bylo podpořeno i absencí cytotypově smíšených populací. Při transplantačních experimentech, kdy bylo několik rostlin každé ploidie přesazeno na písčné duny, bylo potvrzeno, že hexaploidi jsou na ně lépe adaptováni. V transplantačním

experimentu byli použiti také neohehexaploidi, kteří měli o 70 % vyšší schopnost přežití na dunách než tetraploidi, z nichž vznikli. To ukazuje, že právě polyploidizace mohla významně usnadnit kolonizaci aridních stanovišť.

Česnek planý (*Allium oleraceum*) tvoří ve střední Evropě tři cytotypy: tetraploidní, pentaploidní a hexaploidní; které se vyskytují v sympatrii (Duchoslav et al., 2017). Mezi cytotypy byla zaznamenána diferenciace niky, kdy tetraploidi rostou na zastíněnějších, vlhčích a živinami lépe zásobených místech, pentaploidi na sušších, otevřenějších místech s chudšími půdami a hexaploidi se vyskytují na kyselejších půdách v místech s vyšším podílem rudérálních druhů, tedy s častějšími disturbancemi. Stanovištní podmínky cytotypů se ale zřejmě do značné míry překrývají, protože jsou časté cytotypově smíšené populace ( $4x + 5x$ ,  $4x + 5x + 6x$ ,  $5x + 6x$  i  $4x + 6x$ ).

Cytotypy vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) mají v Severní Americe oddělené areály s výjimkou úzké kontaktní zóny, která odpovídá jižní hranici rozšíření boreálního lesa (tajgy) a prochází Skalistými horami (Husband and Schemske, 1998). Severně od této kontaktní zóny se vyskytují jen diploidi, jižně tetraploidi. V zóně společného výskytu cytotypů dochází k jejich prostorovému třídění podél altitudinálního gradientu, diploidi preferují vyšší nadmořské výšky a tetraploidi nižší.

V belgických Ardenách se v parapatrii vyskytují diploidi a tetraploidi chrpy luční (*Centaurea jacea*) (Hardy et al., 2000). Diploidi se vyskytují spíše ve vyšších polohách (370 – 640 m n. m.) a tetraploidi v nižších (180 - 570 m n. m.), přičemž byly nalezeny jen tři smíšené populace v nadmořské výšce okolo 550 m n. m. Kromě nadmořské výšky výskytu nebyly mezi cytotypy pozorovány výrazné rozdíly v habitatu.

Shlukovitost cytotypů může odrážet rozdílný způsob jejich kolonizace území. V Alpách se vyskytují dva cytotypy pryskyřníku *Ranunculus kuepferi*, obligátně sexuální diploidi a fakultativně apomiktičtí tetraploidi (Cosendai et al., 2013). Diploidi se vyskytují v glaciálních refugiích, zatímco tetraploidi byli schopni díky uniparentálnímu rozmnožování rychle kolonizovat místa uvolněná ledovcem. Ke kolonizaci východních a středních Alp pravděpodobně stačila jedna nebo několik málo apomiktických linií, místní populace jsou si velmi geneticky podobné. Vzdálenější místa byla nejspíš kolonizována díky většímu množství zakladatelů ze zdrojových populací na jihozápadě. Případnému rozšíření sexuálních diploidů z refugií pravděpodobně brání tetraploidy kolonizovaná území okolo, v nichž diploidi podléhají vlivu nevýhody malých čísel.

Na hadcích ve Slavkovském lese můžeme nalézt diploidy a tetraploidy ze skupiny chrastavce rolního (*Knautia arvensis* agg.) (Kolář et al., 2012). Místní tetraploidi vznikli autopolyploidizací z místních diploidů a jedná se tedy o primární kontaktní zónu. Zatímco diploidi se drží hadcových výchozů, tetraploidi byli schopni kolonizovat i přilehlá území a hybridizovat s jinde vzniklými tetraploidy rozšířenými v okolí. Zajímavé je, že u chrastavce můžeme v centrální Evropě zároveň pozorovat i sekundární kontaktní zónu mezi převážně severozápadně rozšířenými tetraploidy a jihovýchodně rozšířenými diploidy, přičemž oba tyto cytotypy osidlují hlavně semiruderální mezofilní louky ovlivňované člověkem. V této oblasti se nachází ještě několik izolovaných diploidních populací na hadcích či v subalpínských loukách, vznik tetraploidů z takových reliktních populací byl ale zaznamenán jen ve Slavkovském lese.

Zatímco diferenciace ekologických nik a rozdílná kolonizační historie způsobují segregaci cytotypů na větších prostorových škálách, omezená schopnost šíření a převládající vegetativní rozmnožování způsobují jejich segregaci na menších prostorových škálách, často v rámci jedné lokality.

Pryskyřík *Ranunculus adoneus* má omezenou schopnost šíření semen, která nemají žádné zvláštní uzpůsobení pro dálkový transport a vypadávají průměrně do vzdálenosti okolo 10 cm (Baack, 2005). Také přenos pylu je do značné míry omezený, opylování zprostředkovává drobný dvoukřídlý hmyz, většinou do vzdálenosti 50 cm. Vlivem těchto vlastností tvoří diploidní a tetraploidní cytotypy pryskyříku shluky a interakce mezi cytotypy je omezená, čímž je usnadněna dlouhodobá koexistence obou cytotypů v populaci. To bylo potvrzeno i modelem vytvořeným na základě získaných dat (Baack, 2005).

Smíšené populace tvoří také diploidi a tetraploidi pětiprstky žežulníku (*Gymnadenia conopsea* agg.) ve střední Evropě (Travníček et al., 2011a), jak bylo zmíněno výše. Vzácněji se v těchto populacích vyskytují také tři minoritní cytotypy: triploidi, pentaploidi a hexaploidi. Jednotlivé cytotypy jsou negativně asociovány a na lokalitách tedy tvoří shluky.

Na jihovýchodní Moravě a v Rakousku se nachází smíšené populace jestřábníku hadincového (*Pilosella echioides*; Travníček et al., 2011b). Například na Havranickém vřesovišti se často nachází subpopulace s diploidy, triploidy i tetraploidy. Také jednotlivé cytotypy tohoto jestřábníku se shlukují a to dokonce i na nejjemnějších prostorových škálách (< 5 cm). Toto chování ale nemá jasné vysvětlení, protože k vegetativnímu rozmnožování dochází vzácně a nažky mají chmýr, tudíž jsou adaptovány k šíření na větší vzdálenost. Mohlo by jít

o diferenciaci niky, ale nebyla nalezena ani korelace mezi cytotypy a lokálním složením vegetace. Konkrétní důvod shlukování cytotypů tohoto druhu tak nebyl odhalen.

Naproti tomu u vousatky *Andropogon gerardii* rostoucí na prériích v Coloradu je zřejmé, že shluky hexaploidů a nonaploidů vznikají díky klonálnímu rozmnožování (Keeler, 2004). Shluky mají průměrnou velikost okolo 3000 cm<sup>2</sup> a jsou velmi vytrvalé (přežívají desítky let).

Cytotypy chrastavce rolního (*Knaulia arvensis*) nejsou separovány jen na velké prostorové škále, jak bylo zmíněno výše, ale v oblasti primární kontaktní zóny ve Slavkovském lese byla zjištěna prostorová segregace cytotypů na všech prostorových škálách, od krajinné (převládající cytotypově uniformní subpopulace na hadcovém tělese, jen čtyři subpopulace smíšené) až po vnitropopulační (shluky rostlin stejné ploidie) (Hanzl et al., 2014). Navíc je v tomto případě zřejmé, že nedošlo k diferenciaci niky mezi cytotypy, protože oba rostou v podobném sklonu svahu, okolní vegetace má podobnou pokryvnost jednotlivých pater, druhovou bohatost i průměrné Ellenbergovy indikační hodnoty. Tetraploidi mají však o něco širší ekologickou valenci, díky čemuž dokázali opustit reliktní místa hadcových výchozů. Prostorová segregace je u chrastavce způsobena neadaptivními procesy, jako je efekt zakladatele, limitovaná disperze semen (díky mravencům), výrazné klonální rozmnožování (průměrně 2,7 laterálních růžic na rostlinu) a dlouhověkost rostlin. Přispívá také silný triploidní blok, který jakožto postzygotická reprodukční bariéra omezuje reprodukční interakce mezi cytotypy. Byly totiž nalezeny jen tři triploidní rostliny (Hanzl et al., 2014), které vznikly spojením redukované a neredukované gamety diploidů, nikoli meziploidním křížením.

Na středozápadě USA byly nalezeny nejen čistě diploidní, ale i smíšené populace zlatobýlu (*Solidago altissima*) (Halverson et al., 2008). Smíšené populace jsou tvořeny diploidy, tetraploidy a hexaploidy ve velmi odlišných frekvencích, lišících se výrazně i mezi sousedními populacemi. Jednotlivé cytotypy tvoří shluky díky klonálnímu rozmnožování, ale ve čtvercích o straně 5 m a více byly již rozmístěny rovnoměrně. Mezi cytotypy nebyla potvrzena diferenciace niky. Navíc je zřejmé, že shlukování na tak malých škálách je pro tento druh neefektivní prevencí mezicytotypového křížení, protože hlavní opylovači tohoto zlatobýlu běžně přelétají i na mnohem větší vzdálenosti. Je možné, že smíšené populace této rostliny nedosáhly zatím rovnováhy, což podporuje i fakt, že často osidluje člověkem narušovaná stanoviště. Smíšené populace tak mohou být nestabilní, ale přesto dlouhodobě udržované častými disturbancemi.



Prostorová segregace cytotypů je u studovaných druhů udávána často, což je nejspíše dáno její výhodou, že je dobře pozorovatelná a studovatelná, na rozdíl od některých dalších fenoménů nenáhodného párování, jejichž studium je obtížnější. Obtížněji identifikovatelné jsou ale její příčiny. Například diferenciaci niky cytotypů bývá často posuzována jen na základě klimatických podmínek a méně běžná jsou detailní srovnání vegetace a lokálních ekologických parametrů. Obtížná je také rekonstrukce historie kolonizace území různými cytotypy, která se neobejde bez použití molekulárně genetických metod a detailních znalostí historického vývoje daného území (např. znalost oblastí zaledněných během ledových dob a pozice refugií).

### 3.2.2 Fenologie cytotypů

I když budou cytotypy v prostoru rozmístěny rovnoměrně, nemusí docházet k náhodnému párování. Kromě prostorových zábran se totiž mohou objevit také bariéry časové – může docházet k asynchronizaci kvetení mezi cytotypy. Pokud bude jeden z cytotypů kvést v jinou dobu než druhý, bude samozřejmě docházet jen k opylení mezi jedinci stejného cytotypu a hybridizace bude vyloučena. V přirozených populacích však často nebude docházet k úplnému odlišení dob kvetení cytotypů, ale budou se do různé míry překrývat. Může se například stát, že jeden z cytotypů začne kvést dříve, druhý se k němu později připojí a až do konce sezóny budou kvést společně. V takovém případě bude mít z asynchronního kvetení výhodu jen jeden cytotyp. Naopak, pokud dojde k posunu fenologie, ale perioda kvetení zůstane stejná, budou mít stejnou měrou výhodu oba cytotypy.

Dříve se předpokládalo, že tetraploidi by měli kvést později, protože větší obsah DNA způsobuje pomalejší buněčné dělení, a tedy pomalejší růst (Levin, 1983). V přírodních populacích lze však nalézt oba případy posunu květní fenologie, u některých rostlin kvetou dříve diploidi, u jiných tetraploidi.

Například tetraploidi srhy říznačky (*Dactylis glomerata*) kvetou dříve, ještě než nastane letní sucho, zatímco diploidi kvetou v průběhu celého léta (Maceira et al., 1993). V tomto případě ale doba kvetení souvisí s prostorovou segregací cytotypů zmíněnou výše. Lesní biotop diploidů jim totiž poskytuje příznivější podmínky, hlavně vyšší vlhkost v průběhu letního sucha, díky čemuž nedochází k přílišným ztrátám vody a nevysychají semena. Tetraploidi na otevřených, stromy nechráněných biotopech naproti tomu musí stihnout odkvést předtím, než začnou příliš trpět stresem ze sucha.

Ve smíšených populacích dlužichy *Heuchera grossulariifolia* na přirozených lokalitách na severozápadě USA také začínají tetraploidi kvést dříve než diploidi, a to o asi 8 dnů (Segraves and Thompson, 1999). Doba trvání kvetení se ale mezi cytotypy neliší i přesto, že tetraploidi mají méně květů v květenství. Květy tetraploidů rozkvétají v delším časovém intervalu po sobě, takže výsledná doba kvetení je stejná. Díky tomu mají z asynchronního kvetení výhodu oba cytotypy, protože ze začátku kvetou jen tetraploidi, zatímco na konci jen diploidi. Zvláštní ale je, že u rostlin přesazených do univerzitní zahrady Washingtonské státní univerzity vykvetly asi o 5 dní dříve diploidi. Vlivy prostředí pravděpodobně nějakým způsobem interagují s ploidí (případně s konkrétními genotypy), což vede k otočení pořadí kvetení cytotypů. Rozdíl v květní fenologii je ale v obou případech signifikantní a přispívá k omezení interakcí mezi cytotypy.

U vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) kvetou diploidi o 8 – 10 dnů dříve než tetraploidi, a to jak v zahradě, tak i v přírodních smíšených populacích (Husband & Sabara, 2003). Doba kvetení obou cytotypů se ale z velké části (87 %) překrývá a končí ve stejnou dobu, takže výhodu fenologické izolace mají jen diploidi a to navíc jen částečně. U vrbovky byla také provedena experimentální studie, zjišťující jakým způsobem cytotypy odpovídají na selekci na časnější dobu kvetení (Martin and Husband, 2012). Ustálení tetraploidů z kanadských přírodních populací odpovídali na čtyři generace umělé selekce pomaleji než diploidi. Je však zajímavé, že neotetraploidi indukovaní z diploidů pomocí kolchicinu posunuli dobu kvetení nejvíce a vykazovali tak největší schopnost se rychle adaptovat. Zdvojení genomu by tak v evoluci mohlo, alespoň dočasně, zvýšit efektivitu s jakou se druh přizpůsobuje lokálním podmínkám.

U řebříčku *Achillea borealis* dosahovali tetraploidi vrcholného kvetení o 29 dnů později než hexaploidi (Ramsey, 2011). Díky celkově dlouhé době kvetení ale docházelo k částečným překryvům u některých populací. I když se nabízí, že časnější kvetení může být nezbytnou adaptací hexaploidů umožňující přežití na jejich typických biotopech (písečné duny, značná sucha ve vrcholném létě), pořadí květní fenologie zůstalo zachováno i v již dříve zmíněných transplantačních experimentech. Neohexaploidi nejčastěji kvetli později než ustálení hexaploidi, ale dříve než tetraploidi. Okamžitě po polyploidizaci tedy vznikl posun květní fenologie stejným směrem jako u ustálených hexaploidů.

Ve střední Evropě jsou rozšířené smíšené populace cytotypů z okruhu pětiprstky žežulníku (*Gymnadenia conopsea* s.l.). Konkrétně jde o diploidy a tetraploidy druhu *Gymnadenia*

*conopsea* a diploidy druhu *Gymnadenia densiflora*. V Bílých Karpatech kvete diploid *G. conopsea* brzy a jeho doba kvetení se s ostatními dvěma cytotypy překrývá jen minimálně (6 % – 19 %) (Jersáková et al., 2010). Díky tomu je velmi omezen přenos pylu mezi diploidem *G. conopsea* a ostatními cytotypy. Tetraploidi *G. conopsea* a diploidi *G. densiflora* ale kvetou prakticky současně (překryv 77 %) a jejich květní fenologie tedy nemůže zabránit mezicytotypovému křížení. Je možné, že dříve vzniklé diploidní cytotypy *G. conopsea* a *G. densiflora* si vyvinuly rozdílnou dobu kvetení vlivem selekčního tlaku na omezení hybridizace, zatímco posun květní fenologie u tetraploida *G. conopsea*, vzniklého autopolyloidizací z diploidní *G. conopsea*, nastal jako přímý důsledek polyploidizace a souvisí spíše s pomalejším růstem polyploidů.

Ve španělských Pyrenejích rostou diploidi a tetraploidi ovsíku vyvýšeného (*Arrhenatherum elatius*) v parapatrii (Petit et al., 1997). Mezi cytotypy se vyvinul téměř úplný rozdíl v době kvetení. Dříve kvetou tetraploidi a první z nich začínají kvést asi o 30 dní dříve než první diploidi. Navíc všechny tetraploidní genotypy kromě dvou stihly kompletně odkvést předtím, než začali kvést první diploidi.

### 3.2.3 Chování opylovačů

Další možnost, jak zajistit vnitrocytotypové oplození, může nastat díky chování opylovačů. Vznikne-li u skupiny opylovačů preference pro jeden z cytotypů, budou jej častěji navštěvovat a zajistí tak omezení přenosu pylu mezi cytotypy. Úplná specializace opylovače na jediný cytotyp se zdá být velmi nepravděpodobná, neboť obvykle nedochází k výraznému vzhledovému či fyziologickému odlišení cytotypů. Opylovači by však i tak mohli reagovat na malé změny ve velikosti, tvaru, barvě či vůni květu zvýšenou frekvencí svých návštěv na jednom z cytotypů.

Například tetraploidi vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) mají v květenství víc otevřených květů, které mají větší korunní lístky a delší čnělky než diploidi (Kennedy et al., 2006). Také květy tetraploidů dlužichy *Heuchera grossulariifolia* jsou celkově větší, mají delší čnělky i okvěť, jsou více otevřené než květy diploidů a také mají světlejší žlutavou až bílou barvu, zatímco diploidi jsou výrazně žlutozelení (Segraves and Thompson, 1999). Tyto rozdíly jsou natolik nápadné, že někdy umožňují i rozeznání cytotypů v terénu.

Cytotypy pětiprstky žežulníku (*Gymnadenia conopsea* s.l.) se liší chemickým složením vůně (například benzylbenzoát, benzylbutyrát či cinnamylaldehyd produkuje jen *G. densiflora*,

zatímco diploidi i tetraploidi *G. conopsea* produkují například (Z)-7-dodecenylacetát a (Z)-9-tetradecenylacetát, z nichž první je samičím feromonem opylovače *Autographa gamma*), ale také délkou květní ostruhy (diploid *G. conopsea* 15,5 mm, tetraploid 17,5 mm a diploid *G. densiflora* 16,5 mm) (Jersáková et al., 2010).

Pokud se některé parametry květu (třeba právě délka ostruhy) mezi cytotypy výrazně změni, mohlo by to vést až k znemožnění opylování některými opylovači (například pokud by měli krátký sosák). Většinou ale záleží na opylovači, bude-li rozdíly mezi cytotypy vnímat a některý upřednostňovat. V cytotypově smíšených populacích pětiprstky v Bílých Karpatech k tomu ale nedochází (Jersáková et al., 2010). Přestože oba hlavní opylovači, lišaj kyprejový (*Deilephila porcellus*) a kovolessklec gamma (*Autographa gamma*), jsou schopni rozdílné sloučeniny vůně zaznamenat, rozlišit a jsou jimi přitahováni, v terénu je k preferování některého z cytotypů nevyužívají.

Květní biologie cytotypů pětiprstky ve smíšených populacích napříč Evropou se ale liší. Ve Švýcarsku byl mezi cytotypy jen malý rozdíl v květní fenologii, za to měli polyploidi výrazně větší květy a také větší úspěšnost opylení (Gross and Schiestl, 2015). Chemické složení vůně je ale i zde rozdílné mezi cytotypy. V této studii nebylo explicitně sledováno chování opylovačů, je ale pravděpodobné, že ve zdejších populacích dochází k upřednostňování polyploidů a tedy k nenáhodnému opylení vedoucímu k větší úspěšnosti místních polyploidů. Teoreticky je možné, že se časem zdejší populace stanou čistě polyploidní.

K upřednostňování konkrétního cytotypu došlo také například u amerických kandíků *Erythronium mesochoreum* (2x) a *Erythronium albidum* (4x). Pískorypka *Andrena erythronii* navštěvuje pouze diploidy, zatímco pískorypka *Andrena carlini* upřednostňuje tetraploidy (Roccaforte et al., 2015). Chování opylovačů je v tomto případě druhou nejsilnější reprodukční bariérou, a to po geografické izolaci, která vede k malému množství smíšených populací v parapatrickém areálu výskytu cytotypů. Není ale jasné, jestli tyto druhy hmyzu jsou efektivními opylovači. U květů bývá totiž často sledováno jen, které druhy hmyzu je navštěvují, ale ne jestli je skutečně opylují a jak efektivně.

U dlužichy *Heuchera grossulariifolia* ale byly rozdíly mezi opylovači jednotlivých cytotypů a jejich efektivita zjištěny (Thompson & Merg, 2008). Studovány byly smíšené populace diploidů a tetraploidů na dvou různých místech, u Salmon River a u Selway River, kde vznikly tetraploidi nezávisle na sobě. Bylo zjištěno, že hlavním opylovačem tetraploidů

na obou lokalitách jsou královny čmeláka *Bombus centralis*. Diploidy ze Salmon River opylovaly hlavně dělnice *B. centralis*, ale na Selway River navštěvovaly diploidy málo. Hlavním opylovačem diploidů se zde stala ploskočelka *Lassioglossum*. Navíc se opylovači lišili efektivitou opylování, například královny *B. centralis* produkovaly u tetraploidů na Selway River sedmkrát víc semen na jednu návštěvu než ploskočelky *Lassioglossum*, které byly na květech také časté. Na Salmon River pískorypka *Andrena nigrocaerulea* cytotypy nerozlišovala a navštěvovala oba cytotypy stejně často, ale byla výrazně úspěšnější v opylování diploidů, u nichž způsobila pětinasobně větší produkci semen než u tetraploidů.

I pokud bude oba cytotypy opylovat stejné spektrum opylovačů, může dojít k omezení náhodnosti opylení. Některé druhy hmyzu totiž navštěvují květy stejného vzhledu v dlouhé řadě za sebou a jen občas je vymění za jiné. Takové chování je známé u čmeláků (Raine and Chittka, 2007), ale objevuje se i u včel (Hill et al., 1997) či některých motýlů (Goulson et al., 1997). Lze si tedy představit, že pokud se vytvoří alespoň malý rozdíl mezi cytotypy v barvě, tvaru či vůni květu, opylovač na něj může reagovat.

K tomu mohlo dojít u diploidů a neotetraploidů akácie *Acacia mangium* ve Vietnamu, kde květy navštěvuje stejné spektrum opylovačů - včela medonosná (*Apis mellifera*), včela květná (*A. florea*) a dlouhososka velká (*Bombylius major*) (Nghiem et al., 2011). Pyl přenáší jen včely, na dlouhososkách žádný pozorován nebyl. Většina pylu, která byla nalezena na jednotlivých včelách, pocházela z jednoho cytotypu, z čehož je patrné, že včely přelétávaly přednostně mezi jedinci stejného cytotypu.

Také u vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) cytotypy navštěvuje stejné spektrum opylovačů (Kennedy et al., 2006). Na diploidech i tetraploidech byli pozorováni čmeláci druhů *Bombus mixtus*, *B. bifarius* a *B. melanopygus* a pestřenka rybízová (*Syrphus ribessi*). Tito opylovači byli dohromady zodpovědní za 97 % návštěv. Nejčastějším opylovačem na obou cytotypech byl *B. mixtus* (60 % návštěv na diploidech, 54 % na tetraploidech). Všichni čmeláci navštěvovali květy tetraploidů výrazně častěji než diploidní a drželi se jich v dlouhé řadě za sebou. Čmeláci reagovali na větší velikost i počet květů v květenství. Podíl letů mezi jedinci stejné ploidie byl celkově 73 % (konkrétně 58 % pro diploidy a 83 % pro tetraploidy). Podíl pylu správného cytotypu na blizně (73 %) odpovídal chování opylovačů. Přestože za konstantnost na květu může být částečně zodpovědné shlukování rostlin stejné ploidie, nenáhodné opylení je pro vrbovku významnou prezygotickou reprodukční bariérou.

### 3.2.4 Autogamie

Za velmi efektivní případ vnitrocytotypového opylení můžeme považovat autogamii. Ta může probíhat mezi různými květy v rámci jednoho květenství či jedné rostliny (ať už anemogamicky či entomogamicky), ale i v rámci jediného květu. Na míře autogamického rozmnožování pak bude záviset omezení interakce mezi cytotypy až její úplné znemožnění, v případě úplného přechodu k autogamii. Je ale třeba zmínit, že většina rostlin je autosterilní. Pokud samosprášením potomci přece jen vznikají, může jejich životaschopnost poznamenat inbrední deprese (Briggs and Walters, 2001).

Autogamii do svého modelu začlenil už Levin (1975) a zjistil, že určitá míra autogamie může překonat nevýhodu malých čísel a umožnit koexistenci cytotypů. Ve svém modelu ale nepočítal s vlivem inbrední deprese, díky níž se může snížit vitalita a fertilita potomstva. Začlení-li se inbrední deprese do modelu, může i při vysoké míře autogamie dojít k vyloučení více zasaženého cytotypu z populace (Rausch and Morgan, 2005). Z několika studií vyplývá, že polyploidi využívají autogamii častěji než diploidi (Barringer, 2007; Husband et al., 2008). To je pravděpodobně způsobeno větším počtem chromozómových sad, které by mohly maskovat nepříznivé recesivní alely a vést tak ke snížení vlivu inbrední deprese u polyploidů.

Vliv inbrední deprese by navíc mohl být ještě více potlačen krátce po vzniku polyploidů, jak ukazují experimenty se syntetickými neopolyploidy u vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) (Husband et al., 2008). Neopolyploidi sice mají stejnou frekvenci škodlivých recesivních mutací, ale jejich vliv je omezen díky vyšší heterozygotitě. S opakujícím se samosprášením ale roste homozygotita a s ní i vliv inbrední deprese. Další skutečnost, kterou je třeba zohlednit při zvažování výhodnosti autogamie, je srovnání s triploidním blokem. U tetraploidů vrbovky dochází k častému přenosu pylu mezi květy stejného květenství, respektive mezi rametami jedné genety. Vysoká úroveň inbrední deprese způsobuje významný pokles fitness takto vzniklých semenáčků na pouhých 26 % proti semenáčkům vzniklým opylením mezi nepříbuznými jedinci (Husband and Schemske, 1997). To je ale pro tetraploidy vrbovky pořád výhodnější než vznik triploidních hybridů při křížení s diploidy, neboť ti mají fitness pouhých 9 % (Burton and Husband, 2000).

### 3.2.5 Kompetice gametofytů

Ještě i v případě, kdy dojde k současnému přenosu pylu obou cytotypů na bliznu, nemusí dojít k náhodnému oplození. Byly totiž pozorovány případy, kdy pylové láčky různé ploidie rostou různě rychle, což dokonce nemusí být způsobeno jen vlastní fyziologií láčky, ale také interakcemi mezi pylovou láčkou a pestíkem.

U vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) byla zaznamenána převaha diploidních pylových láček v pestíku při opylení směsí haploidního a diploidního pylu, a to na tetraploidních (79 %) i na diploidních (61 %) mateřských jedincích (Husband et al., 2002). Převaha se projevila v početnosti a rychlosti růstu, i v celkově vyšší úspěšnosti při oplození. U tohoto druhu je tedy diploidní pyl kompetičně zdatnější než haploidní, což vede k nižší produkci triploidních hybridů na tetraploidních matkách ve vnitrocytotypových kříženích a tedy i k nižší intenzitě působení nevýhody malých čísel na tetraploidy. Příčiny tohoto fenoménu nejsou známy, může ale souviset s větší velikostí diploidních pylových zrn (např. větší množství zásobních látek pro růst pylové láčky).

Převaha diploidního pylu byla také zaznamenána u jestřábníku hadincového (*Pilosella echiioides*) (Peckert and Chrtek, 2006). Při nanesení směsi pylu z diploidů a tetraploidů na diploidní rostlinu bylo 94 % semenáčků triploidních a jen 6 % diploidních. Na tetraploidní rostlině však obdobným způsobem vzniklo 39 % triploidů, 47 % tetraploidů a dokonce také 8 % hexaploidů (vznikli díky neredukovanému pylu z tetraploidů). V obou případech je převaha pylu z tetraploidních rostlin dobře patrná.

Naproti tomu u chrpy luční (*Centaurea jacea*) byla při opylení směsí pylů různé ploidní úrovně zaznamenána vyšší úspěšnost pylu příslušné ploidní úrovně na blizně diploidů i tetraploidů. Vyšší úspěšnost příslušného pylu byla způsobena interakcí láčky a pestíku. Tento mechanismus účinně snižuje reprodukční interakce mezi cytotypy (Koutecký et al., 2011). Byl zde dokonce zaznamenán i „efekt mentora“, kdy docházelo k vyšší míře autogamie, pokud se na bliznu dostal pyl jiné ploidní úrovně.

### 3.3 Asexuální rozmnožování

Pokud se druh rozmnožuje asexuálně, agamospermicky či vegetativně, také může dojít k omezení reprodukčních interakcí mezi cytotypy. Asexuální rozmnožování navíc zvyšuje pravděpodobnost uchycení vzácných cytotypů, čímž může také zvýšit ploidní diverzitu v rámci druhu. Navíc byla nalezena silná korelace mezi asexuálním rozmnožováním a výskytem dominantních cytotypů s lichým počtem sad chromozomů (Kolář et al., 2017). Například při častém výskytu triploidů je téměř jisté, že se druh rozmnožuje alespoň částečně (ale možná i výhradně) asexuálně.

Jako příklad tohoto jevu můžeme uvést prhu *Arnica cordiifolia*, v jejíchž populacích koexistují triploidi a tetraploidi, přičemž oba cytotypy jsou schopny asexuálního rozmnožování, převážně klonálně, ale částečně i agamospermicky (vznik neoplozených semen) (Kao, 2007). Sexuálně se rozmnožují jen vzácně. Cytotyp, který je v populaci v menšině, neprodukuje menší počet semen, což koresponduje s tím, že nevýhoda malých čísel se při asexuálním rozmnožování nemá jak projevit.

Také u dalších hvězdnicovitých rostlin jsou asexuálně se množící polyploidi s lichým počtem chromozomů častí. Pampelišky (*Taraxacum* sect. *Ruderalia*) mají velký podíl triploidů v populacích (De Kovel and De Jong, 2001). Triploidi se rozmnožují agamospermicky a diploidi sexuálně. Diploidi jsou častí třeba ve Francii a na Slovensku, směrem na sever ale jejich zastoupení klesá. Triploidi produkují redukovaný i neredukovaný pyl a mohou se zpětně křížit se sexuálními diploidy za vzniku triploidů či tetraploidů. V přírodě však takové hybridizace nejsou časté.

I populace jestřábníku chlupáčku (*Hieracium pilosella*) tvoří kromě sexuálně se množících tetraploidů, dominujících na západě České republiky, také apomiktičtí pentaploidi společně s převážně apomiktickými hexaploidy (Mráz et al., 2008), vyskytujícími se na východě České republiky a na Slovensku. Kontaktní zóna leží na hranici Českého masivu a Západních Karpat (a přilehlé části Panonie). Smíšené populace dvou cytotypů byly nalezeny v 11 % případů. Sexuální tetraploidi mají i v rámci celé Evropy spíše subatlantické rozšíření, zatímco apomiktičtí penta- a hexaploidi, vzniklí pravděpodobně nezávisle na sobě v centrální Evropě i ve Skandinávii, rychle osídlili území uvolněná po odtání ledovce po konci poslední doby ledové.



U *Townsendia hookeri* dokonce vznikly ze sexuálně se množících diploidů apomiktičtí polyploidi opakovaně, minimálně čtyřikrát (Thompson and Whitton, 2006). I zde je patrné podobné rozložení jako u předchozího případu, kdy se sexuální diploidi vyskytují ve dvou glaciálních refugiiích ve Wisconsinu, zatímco apomiktičtí polyploidi osídlili okolní odledněná území.

Komplex škard (*Crepis*) v Severní Americe zahrnuje 7 diploidů, rozmnožujících se sexuálně a mnoho apomiktických polyploidů. Sexuální druhy málokdy koexistují s jinými druhy tohoto komplexu, zatímco apomiktičtí polyploidi spolu koexistují velmi často v různých kombinacích. Přesto byla nalezena smíšená populace diploida *Crepis atribarba* a apomiktického polyploida *C. barbiger*a (vysoká ploidie, ~7x-8x) (Hersh et al., 2016). Tento druh je diplosporický (nepotřebuje opylení k vývoji embrya ani endospermu), ale stále produkuje pyl. Ten může opylit sexuálního diploida a způsobovat reprodukční interferenci, jak bylo zjištěno i v experimentálních kříženích mezi těmito druhy. Hybridi měli přibližně poloviční ploidii (~5x), vznikali pravděpodobně splynutím redukovaného pylu *C. barbiger*a s vaječnou buňkou *C. atribarba*. I v přirozených podmínkách bylo nalezeno přibližně 18,4 % těchto hybridních semen a byly zaznamenány i dospělé rostliny kříženců. Zajímavé je, že i při křížení diploida a polyploida bylo nalezeno malé množství diploidních semen. Uplatnil se zde pravděpodobně výše zmíněný efekt mentora. Takto vzniklá semena ale mohou čelit značné inbrední depresi. V této smíšené populaci tedy dochází k asymetrické reprodukční interferenci, kdy je snižován podíl diploidních semen jedinců *C. atribarba* vývojem hybridních semen. Apomiktičtí jedinci *C. barbiger*a ale zasažení nejsou. Je tedy možné, že sexuální druh *C. atribarba* bude časem z populace vytlačen.

Podobná populační struktura ale není výhradou hvězdnicovitých, vyskytuje se i u jiných skupin rostlin. U česneku planého (*Allium oleraceum*), který se rozmnožuje hlavně klonálně pomocí cibule a pacibulek, převažují pentaploidní rostliny v České republice často tvořící smíšené populace s tetraploidy nebo hexaploidy (Duchoslav et al., 2010). Také populace šmelu okoličnatého (*Butomus umbellatus*) se skládají ze sexuálních diploidů a převážně asexuálních triploidů (Kliber and Eckert, 2007). V Evropě, odkud pochází, převažují triploidní populace, ale v Severní Americe, kam byl introdukován, převažují diploidi. Rozšíření diploidů zde pravděpodobně pomohlo klonální rozmnožování pomocí oddenků a pacibulek, které je výrazně efektivnější než u severoamerických triploidů. Sexuální diploidi a fakultativně apomiktičtí tetraploidi se nachází také u pryskyřníku *Ranunculus kuepferi*, jak je zmíněno výše.

### 3.4 Opakovaný vznik polyploidů

Jedním z faktorů je opakovaný a častý nezávislý vznik polyploidů. Bude-li frekvence vzniku nových cytotypů dostatečně vysoká, zvýší se tím pravděpodobnost, že některý z nich bude úspěšný, uchytí se a výrazně naroste jeho početnost. K tomu nemusí nutně dojít jen díky specifickým vlastnostem polyploida, ale i vlivem náhody. Opakovaný častý vznik polyploidů bude mít jednoznačně kladnou roli při samotném vzniku smíšených populací z populací původně diploidních. Může také přispívat k udržení stávajících smíšených populací, pokud budou polyploidi díky jinému mechanismu ubývat. Budou-li však polyploidi z nějakého důvodu reprodukčně úspěšnější než jejich předci s menším počtem chromozomových sad, povede opakovaný vznik polyploidů k rychlejšímu vyloučení těchto předků z populací. Skutečná frekvence vzniku nových polyploidů je ale v drtivé většině případů neznámá, a navíc je zřejmě druhově specifická. Díky extrémní vzácnosti tohoto jevu je totiž obtížné jej zachytit. Řada studií se ale zabývala frekvencí vzniku neredukovaných gamet (tj. gamet se somatickým počtem chromozómů), vedoucí k nejčastějšímu způsobu vzniku polyploidů, spojením redukované a neredukované gamety jedinců původní ploidie. Frekvenci vzniku neredukovaných gamet lze zjistit přímo pozorováním rozdílů mezi redukovanými a neredukovanými gametami, pokud jsou dobře detekovatelné (např. v podobě rozdílné velikosti haploidního a diploidního pylu), nebo odhadem z podílu hybridního potomstva.

U srhy říznačky (*Dactylis glomerata*) byla zjištěna průměrná frekvence 0,49 % neredukovaných vajíček ze všech uskutečněných křížení mezi mateřskými diploidními a tetraploidními rostlinami (Haan et al., 1992). Průměrná frekvence neredukovaného pylu ve stejném typu křížení však byla vyšší a činila 0,98 % (Maceira et al., 1992). Mezi mateřskými diploidními rostlinami byla nalezena jedna s velmi častou tvorbou neredukovaných vajíček, konkrétně 26 % (Haan et al., 1992). Naproti tomu mezi otcovskými diploidními rostlinami bylo 6 rostlin s vysokým podílem produkovaného neredukovaného pylu (> 8 %) (Maceira et al., 1992). Zvýšená produkce samčích a samičích gamet zpravidla nebyla korelovaná, což může naznačovat, že mechanismy jejich vzniku se mohou lišit.

Ve dvou populacích tomky *Anthoxanthum alpinum* byl studován podíl „velkého pylu“ (Bretagnolle, 2001). Ten má u tomky průměrně o 55 % větší průměr než haploidní (Humbert-Droz and Felber, 1992). Nalezené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,8 % - 1,3 %. Z těchto hodnot byl vypočítán předpokládaný výskyt triploidních semen 1,6 % - 2,2 %. Ve čtyřech populacích bylo zaznamenáno 0,12 % - 0,49 % triploidních semen. Přibližně řádový rozdíl

mezi předpokládanými a pozorovanými hodnotami může být způsoben zejména triploidním blokem, ale i předpokladem, že v populaci je produkce neredukovaného pylu a vajíček stejná, a také skutečností, že ne všechny „velký pyl“ musí být diploidní (Bretagnolle, 2001).

Také u vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*) byl učiněn odhad podílu neredukovaných gamet, a to díky podílu triploidních semenáčků při křížení diploidních rostlin. Jeho hodnota je přibližně 3 % (Burton and Husband, 2001). Tedy vyšší než v předchozích případech.

Kreiner (Kreiner et al., 2017) studovala míru produkce neredukovaných gamet v přirozených populacích u 24 druhů rostlin z čeledi Brassicaceae, a to přímo měřením obsahu DNA v pylových zrnech pomocí průtokové cytometrie. Průměrná frekvence neredukovaných gamet byla 2,52 %, hodnoty se ale dosti lišily mezi jednotlivými druhy, pohybovaly se od 0,4 % (*Erucastrum gallicum*) po 8,57 % (*Cardamine concatenata*) a často se ukázaly být druhově specifické. Je zajímavé, že míra produkce neredukovaných pylových zrn souvisela s reprodukčním systémem studovaných druhů. U sexuálně se množících neautogamických druhů byla v rozmezí 1,0 % - 1,6 %, u asexuálních druhů (včetně *C. concatenata*) byla nápadně větší, přes 5 %.

U jestřábníku *Pilosella echioides* byly při křížení diploidů, triploidů a tetraploidů zjištěny velmi rozdílné frekvence neredukovaných gamet v závislosti na cytotypu (Herben et al., 2016). U diploidů vznikaly neredukované gamety jen velmi málo, asi v 0,1 % případů, a byly častější v případě pylu než vajíček. Naproti tomu neredukované vaječné buňky z triploidních jedinců vznikaly v neuvěřitelných 89 % případů, pyl byl častěji diploidní než triploidní. Také u tetraploidů vznikal větší podíl neredukovaných vajíček než v případě diploidů (asi 7 %), ale neredukovaný pyl nevznikal vůbec.

Ve všech těchto studiích byly zjištěny nízké hodnoty vzniku nových polyploidů, nedostačující k dosažení dominance polyploidního cytotypu. Odhadovaná potřebná frekvence vzniku, která by sama o sobě stačila k uchycení polyploida, se pohybuje v rozmezí 6 % – 17 %, v závislosti na jeho životaschopnosti a plodnosti (Felber, 1991). Pro zachování koexistence cytotypů ve smíšených populacích ale není nezbytně nutné, aby polyploid převládl, takže potřebné hodnoty budou nižší. Lze spekulovat, že hodnoty udávané u některých výše zmíněných příkladů, by mohly stačit.

## 4 Stabilita smíšených populací v čase

Mohou smíšené populace různých cytotypů vytrvat dlouhodobě? To je zásadní otázka týkající se koexistence cytotypů. Díky mechanismům popsaným v předchozí kapitole může dojít k omezení reprodukčních interakcí mezi cytotypy, díky kterému už nebude méně zastoupený cytotyp podléhat nevýhodě malých čísel (snižující jeho fitness a vedoucí k jeho vytlačení). To by tedy mohlo vést k nastolení rovnováhy mezi cytotypy a k jejich dlouhodobé koexistenci.

Některé zmíněné mechanismy ale mohou vést také k vytvoření kompetiční výhody pro jeden z cytotypů (například upřednostňování jednoho cytotypu opylovači, masivní klonální růst či výrazně větší vzrůst), díky níž může začít expandovat a postupně vytlačit méně zdatný cytotyp. V tomto případě by tak koexistence cytotypů byla jen dočasnou záležitostí. Do přímého směru evoluce řízeného větší konkurenceschopností jednoho z cytotypů ale mohou zasáhnout vlivy prostředí – disturbance a migrace.

Disturbance mohou zničit část populace a s větší pravděpodobností zasáhnou početnější cytotyp, díky čemuž by opět mohl vzrůst podíl méně zdatného cytotypu v populaci. Budou-li se disturbance pravidelně opakovat, může dojít k vytvoření dlouhodobé koexistence cytotypů, ačkoli mezi nimi bude méně zdatný cytotyp vytrvale ubývat. Všechno ale záleží na konkrétní síle disturbance, místě jejího působení a frekvenci jejího opakování. Může se i stát, že znevýhodněný méně častý cytotyp na disturbanci sám doplatí. Nebo přestože by disturbance znevýhodňovala zdatnější cytotyp, nemusí se opakovat dostatečně často na to, aby stihla méně početný cytotyp „zachránit“ před vymřením.

Je tedy zjevné, že vliv disturbance může být velmi rozmanitý a teoreticky těžko předvídatelný. Je tedy třeba získat experimentální data z konkrétních populací, abychom mohli predikovat jejich další směřování.

Také dochází-li mezi populacemi k časté migraci, bude mít velký vliv na jejich cytotypové složení. Migrace může působit souhlasným i opačným směrem než jaký je vývoj v konkrétní populaci. Například může podpořit uchycení polyploida v populaci, kde by jinak podlehl nevýhodě malých čísel nebo při sekundárním kontaktu cytotypů může vést ke vzniku a udržení smíšených populací. Většina smíšených populací rostlin se nachází v kontaktních zónách cytotypů (Kolář et al., 2017), jsou tedy součástí většího celku a lze předpokládat migraci cytotypů v rámci kontaktní zóny i z cytotypově uniformních částí areálu do kontaktní

zóny. Existuje bohužel jen málo studií, kde je vliv migrace zmíněn, detailnější studium vlivu tohoto procesu na koexistenci cytotypů není doposud k dispozici. Může to být tím, že většina autorů se soustředí na vznik a uchycení nových polyploidů v diploidních populacích (nikoli na koexistenci v kontaktních zónách), kde vlastně nelze předpokládat, že by migrace z okolních populací hrála významnou roli.

Vliv disturbancí byl pozorován u chrpy latnaté (*Centaurea stoebe*) ve smíšených populacích v sekundární kontaktní zóně cytotypů ve střední Evropě (Mráz et al., 2012). V těchto populacích se potkávají diploidi původní v těchto místech s nově přichozími allotetraploidy vzniklými hybridizací diploidů chrpy latnaté a blízce příbuzného neznámého druhu. Největší výhoda tetraploidů je jejich polykarpický životní cyklus na rozdíl od monokarpických diploidů. Přes tuto výhodu jsou na těchto lokalitách nalézáni v menším množství a jen na místech, která jsou ovlivněna lidskými disturbancemi, otevřenější a sušší. Nejčastěji byli nalézáni podél cest, kam se navíc jejich semena mohla snadněji dostat díky lidské činnosti (schopnosti šíření semen jsou jinak malé, nažky nemají přizpůsobení pro šíření větrem). Přes jejich menší početnost a snížení fitness díky nevýhodě malých čísel v populacích přetrvávali do dalších let, kromě jedné populace, kde byli poslední tři tetraploidní jedinci zničení disturbancí a populace se tak stala výhradně diploidní. Ze studie tohoto druhu je tedy patrné, že disturbance mohou dlouhodobě podporovat přetrvávání méně početného cytotypu, ale zároveň jej mohou v některých populacích „dorazit“.

Bohužel zatím neexistují žádné studie, které by se detailně zabývaly vlivem disturbancí či migrace na cytotypově smíšené populace. Velmi málo studií se také zabývá detailním sledováním vývoje frekvence cytotypů ve smíšených populacích během několika let, ačkoli právě to je klíčové pro zodpovězení otázek týkajících se jejich stability.

Srovnání po nejdelší době nabízí sledování populací bažanky roční (*Mercurialis annua*) ve Španělsku. V roce 1963 zde byly zaznamenány parapatrické areály diploidů a hexaploidů tvořící dvě kontaktní zóny (Durand, 1963). Tyto zóny se po 40 letech posunuly o (80 – 200) km (Buggs and Pannell, 2006). Hexaploidi jsou neustále vytlačováni kompetičně zdatnějšími diploidy na sever. Diploidi mají mnoho výhod – jsou dvoudomí, takže produkují podstatně větší množství pylu než jednodomí hexaploidi. Produkují více biomasy, jsou vyšší, mají účinnější fotosyntézu a nižší mortalitu semenáčků. A dokonce jsou lépe adaptovaní na biotopy hexaploidů než samotní hexaploidi a mají zde také větší fitness (Buggs and Pannell, 2007). K silnému rozrůznění obou cytotypů nejspíš došlo v pleistocenních glaciálních refugích, kde

se pravděpodobně tetraploid *M. annua* zkřížil s diploidem *M. huetii* za vzniku allohexaploida *M. annua* (Korbecka et al., 2010). Z refugií se druhy postupně rozšířily zpět a diploidi jsou na nynější podmínky na stanovištích lépe adaptováni.

V České republice se nachází difúzní kontaktní zóna cytotypů heřmánkovce nevonného (*Tripleurospermum inodorum*) (Čertner et al., 2017). Populace tohoto jednoletého polního plevelu tvoří převážně diploidi a tetraploidi. Většina populací v kontaktní zóně je tetraploidní, následují smíšené populace a nejméně početné jsou populace čistě diploidní. Heřmánkovec nemá nažky opatřené chmýrem, který by usnadňoval šíření na velké vzdálenosti. Může být ale šířen za pomoci hospodářských zvířat a zemědělské techniky. Tak by mohlo docházet k migraci mezi populacemi, přičemž vzhledem k větší početnosti tetraploidních populací je pravděpodobnější právě imigrace tetraploidů. Noví tetraploidi vznikají v populacích velmi vzácně, byli nalezeni jen ve 3 případech z 11018 analyzovaných rostlin. To mohlo být snadno odhaleno díky tomu, že velikost genomu ustálených tetraploidů se nerovná dvojnásobku velikosti genomu diploidů, ale je menší. Proto je nepravděpodobné, že by opakovaný vznik tetraploidů hrál ve vývoji kontaktní zóny významnou roli. Mezi cytotypy nebyla zjištěna diferenciace niky, jsou v terénu nerozlišitelné, autosterilní a nejsou schopny klonálního růstu. Ve 3 z 5 populací bylo zaznamenáno mírné shlukování rostlin stejné ploidie, pravděpodobně díky limitovanému šíření semen. Interakce mezi cytotypy tedy není významně omezena díky nenáhodnému párování a koexistenci nepodporuje ani asexuální rozmnožování. Vzhledem k převažující imigraci tetraploidů by se tedy dalo očekávat, že diploidi budou ze smíšených populací brzy vytlačeni. Přesto se smíšené populace ukázaly být překvapivě vytrvalé. Významnou roli totiž u této jednoleté rostliny hraje trvalá semenná banka v půdě. Díky ní zůstávaly v meziročně sledované populaci přítomny oba cytotypy, a to i přes vytrvalý pokles počtu jedinců a úplnou absenci heřmánkovce v jedné sezoně. Významné jsou také opakované disturbance, které s větší pravděpodobností zasahují početnější cytotyp, jak bylo zmíněno výše.

Vousatka *Andropogon gerardii* je dominantní trávou ve vysokostébelných prériích v Severní Americe. Smíšené populace jsou časté napříč celým jejím areálem a jsou tvořeny hexaploidními a nonaploidními jedinci a také menšinovými intermediárními cytotypy – aneuploidy s neustálenou velikostí genomu. Na většině neumožňovala vysoká hustota vegetace rozlišení jednotlivých jedinců. Ve smíšené populaci v Boulder v Coloradu je vegetace méně hustá, což umožnilo čtyřletou studii této populace v letech 1996 - 1999 (Keeler, 2004). V populaci byli nejčastější hexaploidi s frekvencí výskytu 59,6 %, následovali

nonaploidi zastupující 35,3 % jedinců vousatky a zbývajících 5,1 % byli intermediární cytotypy. Přestože ty jsou většinu aneuploidní, nalézají se mezi nimi i velké, plodné rostliny. Vousatka *Andropogon gerardii* je typická výrazným klonálním růstem, přičemž cytotypy se signifikantně neliší v průměrné ploše jednotlivých klonů ani v jejich meziročním přírůstku. Nonaploidi ale mají větší listy než hexaploidi i intermediární cytotypy. Výrazný rozdíl mezi cytotypy byl ale nalezen v reprodukci. Počet kvetoucích stébel i počet klásků je sice stejný, ale z jednoho gramu klásků hexaploidů vyrostе asi čtyřikrát více semenáčků než z jednoho gramu klásků nonaploidů (35,7 proti 8,7). Hexaploidi tedy produkují výrazně více životaschopných semen. Navíc většina (78,8 %) semenáčků hexaploidních mateřských rostlin je také hexaploidních (zbytek tvoří 19,7 % intermediárních a 1,5 % nonaploidních), zatímco nonaploidi produkují většinu (71 %) semenáčků intermediárních cytotypů, 25 % hexaploidů a jen 3,8 % potomstva své vlastní ploidie. Reprodukční převaha hexaploidů by měla vést k vyloučení nonaploidů ze smíšených populací během několika generací. Přesto za čtyři roky výzkumu posun tímto směrem zaznamenán nebyl. Vousatka má totiž velmi dlouhou generační dobu (odhad 50 - 100 let), a tak čtyři roky nemohou být dostačující pro zjištění mezigeneračních změn. Přesto je otázkou, jak se reprodukčně málo úspěšní nonaploidi v populaci objevili v tak velkém množství. Je možné, že velká disturbance, třeba výrazné sucho, může populace zredukovat na několik málo izolovaných jedinců a podpořit tak relativní nárůst nonaploidů. V populacích pak vytrvávají velmi dlouho díky velké dlouhověkosti klonů. Pozdější studie na stejném druhu potvrdila častý výskyt smíšených populací (~46 %), ale odhalila, že v jižní části areálu se nachází populace s výrazně větším zastoupením nonaploidů a také populace čistě nonaploidní (McAllister et al., 2015). Takové populace se nacházely na sušších místech s velkými rozdíly teplot během dne i roku. To může být způsobeno lepší adaptací nonaploidů na sušší klima, ale ekofyziologické vlastnosti cytotypů zatím nebyly studovány. Jiné vysvětlení nabízí častý opakovaný vznik nonaploidů. V sušších a teplejších místech by teoreticky mohly častěji vznikat neredukované gamety, což by mohlo vést ke zvýšenému vzniku neopolyploidů. U vousatky bylo potvrzeno, že nonaploidi vznikli vícekrát v historii (McAllister and Miller, 2016), efekt prostředí na vznik neredukovaných gamet ale zatím není znám. V populacích navíc bývá nalézáno extrémně malé množství semenáčků, výrazně převažuje klonální růst. Proto podaří-li se nonaploidnímu jedinci vyklíčit a vyrůst, může se dál úspěšně množit vegetativně a vytrvat velmi dlouho. Distribuci cytotypů tedy pravděpodobně ovlivnil také neadaptivní proces, efekt zakladatele. Roli může hrát také genetický drift, neboť v některých malých izolovaných populacích mimo

areál vysokostébelných prérií došlo sice k fixaci jen jednoho cytotypu, ale ne vždy toho samého.

Další studie explicitně sledující časový vývoj smíšených populací zatím nejsou k dispozici. V několika případech dlouho studovaných druhů není udáván žádný posun kontaktní zóny. Jde například o druhy srha říznačka (*Dactylis glomerata*), prha *Arnica cordifolia* a jitrocel prostřední (*Plantago media*) (Kolář et al., 2017). Naproti tomu u vikve ptačí (*Vicia cracca*) bylo po necelých 40 letech zaznamenáno vymizení diploidních jedinců v jižních Čechách (Trávníček et al., 2010). Druhá kontaktní zóna, kopírující hranice České republiky a Slovenska, od níž se na západ vyskytují výhradně tetraploidi a na východ převážně diploidi, se ale nezměnila.



## 5 Závěr

V této práci jsem se zabývala koexistencí různých cytotypů ve smíšených populacích. Popsala jsem různé mechanismy, které ji ovlivňují a poznatky o jejím časovém vývoji.

V dřívějších teoretických modelech se předpokládalo, že smíšené populace jsou jen dočasné, protože kvůli působení nevýhody malých čísel v nich nutně dojde k eliminaci jednoho cytotypu. Nevýhoda malých čísel znamená, že fitness jedince je určena relativní četností cytotypu, přičemž cytotyp, který je v menšině, bude z populace neodvratně vyloučen. K tomu dochází proto, že podstatná část vaječných buněk menšinového cytotypu nebude oplozena spermatickými buňkami příslušné ploidie a neustále se tak zmenšuje podíl jeho potomstva.

Skutečné přírodní smíšené populace ale mohou být dosti vytrvalé, protože v nich často neplatí předpoklady nevýhody malých čísel, tedy náhodná distribuce cytotypů, náhodný přenos pylu mezi nimi a neživotaschopnost hybridního potomstva. Existuje mnoho faktorů, které mohou koexistenci ve smíšených populacích ovlivnit.

Pokud jeden z cytotypů získá kompetiční výhodu, bude se jeho podíl v populaci zvyšovat, až druhý cytotyp vytlačí. Vytrvalost smíšených populací ale může prodloužit nenáhodné párování, kdy je omezena interakce mezi cytotypy a přednostně dochází k oplození pylem příslušné ploidie. Nenáhodné párování může být dosaženo různými způsoby (prostorová segregace cytotypů, posun v květní fenologii, chování opylovačů, autogamie či kompetice gametofytů). Interakci mezi cytotypy omezuje také asexuální rozmnožování. To snižuje závislost na pohlavním rozmnožování, čímž se zvýší pravděpodobnost setrvání vzácných cytotypů v populaci a umožňuje také převahu cytotypů s lichým počtem chromozomů.

Některé faktory nemají univerzálně předvídatelný vliv na smíšené populace, ale záleží na kontextu konkrétní populace. Sem patří například opakovaný vznik polyploidů. Malému podílu polyploidů v populaci může k přežití pomoci jejich častý opakovaný vznik díky neredukovaným gametám. Budou-li ale ve většině, pak opakovaný vznik uspíší vyloučení diploidů z populace. Nejednoznačný vliv mají také migrace a disturbance, protože při jejich působení nezáleží jen na parametrech populace, ale také na směru a síle působení konkrétní disturbance či migrace a případně i na periodě jejich opakování. Také působení náhody může ovlivnit strukturu smíšených populací, například díky genetickému driftu může dojít k vymizení jednoho z cytotypů. Díky efektu zakladatele zase může populaci založit i jinak znevýhodněný cytotyp a být v této populaci dominantní.

Některé faktory tedy mají jednoznačně predikovatelný vliv na smíšené populace, jiné nikoliv. Nakonec ale vždy záleží na kombinaci všech faktorů, které na danou populaci působí. Naše znalosti těchto procesů zatím nejsou dostatečné na to, aby bylo možné sestavit univerzálně použitelný model vývoje cytotypově smíšených populací a tak posoudit jejich evoluční potenciál. Je tedy nutné získávat empirická data o časovém vývoji přirozených smíšených populací i o mechanismech které jsou příčinou změn v cytotypovém složení. Této oblasti ale zatím není věnována dostatečná pozornost, pravděpodobně kvůli časové náročnosti takových studií. Pokud se ale chceme dozvědět více o polyploidní speciaci a evoluci polyploidních linií, budou takové studie nezbytné.

## 6 Seznam použité literatury

**Baack EJ.** Ecological factors influencing tetraploid establishment in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*, Ranunculaceae): minority cytotype exclusion and barriers to triploid formation. *American Journal of Botany* **2005**;92:1827–1835.

**Barringer BC.** Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. *American Journal of Botany* **2007**;94:1527–1533.

**Bretagnolle F.** Pollen production and spontaneous polyploidization in diploid populations of *Anthoxanthum alpinum*. *Biological Journal of the Linnean Society* **2001**;72:241–247.

**Briggs D, Walters SM.** Proměnlivost a evoluce rostlin. 3. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci; **2001**.

**Buggs RJA, Pannell JR.** Ecological differentiation and diploid superiority across a moving ploidy contact zone. *Evolution* **2007**;61:125–140.

**Buggs RJA, Pannell JR.** Rapid displacement of a monoecious plant lineage is due to pollen swamping by a dioecious relative. *Current Biology* **2006**;16:996–1000.

**Burton TL, Husband BC.** Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (Onagraceae): consequences for tetraploid establishment. *Heredity* **2001**;87:573–582.

**Burton TL, Husband BC.** Fitness differences among diploids, tetraploids, and their triploid progeny in *Chamerion angustifolium*: Mechanisms of inviability and implications for polyploid evolution. *Evolution* **2000**;54:1182–1191.

**Čertner M, Fenclová E, Kur P, Kolář F, Koutecký P, Krahulcová A, et al.** Evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations in an annual herb: dispersal, local persistence and recurrent origins of polyploids. *Annals of Botany* **2017**;120:303–315.

**Chapman MA, Abbott RJ.** Introgression of fitness genes across a ploidy barrier. *New Phytologist* **2010**;186:63–71.

**Cosendai A-C, Wagner J, Ladinig U, Rosche C, Hörandl E.** Geographical parthenogenesis and population genetic structure in the alpine species *Ranunculus kuepferi* (Ranunculaceae). *Heredity* **2013**;110:560–569.

**Coyne J, Orr H.** Speciation. Sunderland: Sinauer Associates; **2004**.

**De Kovel, De Jong.** Selection on apomictic lineages of *Taraxacum* at establishment in a mixed sexual–apomictic population. *Journal of Evolutionary Biology* **2001**;13:561–568.

**Duchoslav M, Fialová M, Jandová M.** The ecological performance of tetra-, penta- and hexaploid geophyte *Allium oleraceum* in reciprocal transplant experiment may explain the occurrence of multiple-cytotype populations. *Journal of Plant Ecology* **2017**;10:569–580.

**Duchoslav M, Šafářová L, Krahulec F.** Complex distribution patterns, ecology and coexistence of ploidy levels of *Allium oleraceum* (Alliaceae) in the Czech Republic. *Annals of Botany* **2010**;105:719–735.

**Durand B.** Le Complexe “*Mercurialis Annua* L. s.l.”: une étude biosystématique. *Annales Des Sciences Naturelles, Botanique, Paris* 1963;12:579–736.

**Felber F.** Establishment of a Tetraploid Cytotype in a Diploid Population –Effect of relative fitness of the cytotypes. *Journal of Evolutionary Biology* **1991**;4:195–207.

**Gauthier P, Lumaret R, Bédécarrats A.** Genetic variation and gene flow in Alpine diploid and tetraploid populations of *Lotus* (*L. alpinus* (D.C.) Schleicher/*L. corniculatus* L.). I. Insights from morphological and allozyme markers. *Heredity* **1998**;80:683–693.

**Goulson D, Ollerton J, Sluman C.** Foraging strategies in the small skipper butterfly, *Thymelicus flavus*: When to switch? *Animal Behaviour* **1997**;53:1009–1016.

**Gross K, Schiestl FP.** Are tetraploids more successful? Floral signals, reproductive success and floral isolation in mixed-ploidy populations of a terrestrial orchid. *Annals of Botany* **2015**;115:263–273.

**Haan AD, Maceira NO, Lumaret R, Delay J.** Production of 2n Gametes in Diploid Subspecies of *Dactylis glomerata* L. 2. Occurrence and Frequency of 2n Eggs. *Annals of Botany* **1992**;69:345–350.

**Halverson K, Heard SB, Nason JD, Stireman JO.** Origins, distribution, and local co-occurrence of polyploid cytotypes in *Solidago altissima* (Asteraceae). *American Journal of Botany* **2008**;95:50–58.

**Hanzl M, Kolář F, Nováková D, Suda J.** Nonadaptive processes governing early stages of polyploid evolution: Insights from a primary contact zone of relict serpentine *Knautia arvensis* (Caprifoliaceae). *American Journal of Botany* **2014**;101:935–945.

**Hardy OJ, Vanderhoeven S, De Loose M, Meerts P.** Ecological, morphological and allozymic differentiation between diploid and tetraploid knapweeds (*Centaurea jacea*) from a contact zone in the Belgian Ardennes. *New Phytologist* **2000**;146:281–290.

**Herben T, Trávníček P, Chrtek J.** Reduced and unreduced gametes combine almost freely in a multiploidy system. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **2016**;18:15–22.

**Hersh E, Grimm J, Whitton J.** Attack of the clones: reproductive interference between sexuals and asexuals in the *Crepis* agamic complex. *Ecology and Evolution* **2016**;6:6473–6483.

**Hill PSM, Wells PH, Wells H.** Spontaneous flower constancy and learning in honey bees as a function of colour. *Animal Behaviour* **1997**;54:615–627.

**Hülber K, Sonnleitner M, Flatscher R, Berger A, Dobrovsky R, Niessner S, et al.** Ecological segregation drives fine-scale cytotype distribution of *Senecio carniolicus* in the Eastern Alps. *Preslia* **2009**;81:309–319.

**Humbert-Droz C, Felber F.** Etude biométrique des stomates et des grains de pollen comme indicateurs du degré de polyploïdie chez *Anthoxanthum alpinum* Löve et Löve. . Bulletin de La Société Neuchâteloise Des Sciences Naturelles **1992**;115:31–45.

**Husband BC.** The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. Biological Journal of the Linnean Society **2004**;82:537–546.

**Husband BC.** Constraints on polyploid evolution: a test of the minority cytotype exclusion principle. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences **2000**;267:217–223.

**Husband BC, Ozimec B, Martin SL, Pollock L.** Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: Current trends and insights from synthetic polyploids. International Journal of Plant Sciences **2008**;169:195–206.

**Husband BC, Sabara HA.** Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). New Phytologist **2003**;161:703–713.

**Husband BC, Schemske DW.** The effect of inbreeding in diploid and tetraploid populations of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae): Implications for the genetic basis of inbreeding depression. Evolution **1997**;51:737–746.

**Husband BC, Schemske DW, Burton TL, Goodwillie C.** Pollen competition as a unilateral reproductive barrier between sympatric diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences **2002**;269:2565–2571.

**Husband BC, Schemske DW.** Cytotype distribution at a diploid-tetraploid contact zone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (Onagraceae). American Journal of Botany **1998**;85:1688–1694.

**Jersáková J, Castro S, Sonk N, Milchreit K, Schoedelbauerova I, Tolasch T, et al.** Absence of pollinator-mediated premating barriers in mixed-ploidy populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchidaceae). Evolutionary Ecology **2010**;24:1199–1218.

**Johnson MTJ, Husband BC, Burton TL.** Habitat Differentiation between Diploid and Tetraploid *Galax urceolata* (Diapensiaceae). International Journal of Plant Sciences **2003**;164:703–710.

**Kao RH.** Implications of Polyploidy in the Host Plant of a Dipteran Seed Parasite. Western North American Naturalist **2008**;68:225–230.

**Kao RH.** Asexuality and the coexistence of cytotypes. New Phytologist **2007**;175:764–772.

**Keeler KH.** Impact of intraspecific polyploidy in *Andropogon gerardii* (Poaceae) populations. The American Midland Naturalist **2004**;152:63–74.

**Keeler KH, Davis GA.** Comparison of common cytotypes of *Andropogon gerardii* (Andropogoneae, Poaceae). American Journal of Botany **1999**;86:974–979.

**Kennedy BF, Sabara HA, Haydon D, Husband BC.** Pollinator-mediated assortative mating in mixed ploidy populations of *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *Oecologia* **2006**;150:398–408.

**Kliber A, Eckert CG.** Interaction between founder effect and selection during biological invasion in an aquatic plant. *Evolution* **2007**;59:1900–1913.

**Kolář F, Čertner M, Suda J, Schönschwetter P, Husband BC.** Mixed-Ploidy Species: Progress and Opportunities in Polyploid Research. *Trends in Plant Science* **2017**;22:1041–1055.

**Kolář F, Fér T, Štech M, Trávníček P, Dušková E, Schönschwetter P, et al.** Bringing Together Evolution on Serpentine and Polyploidy: Spatiotemporal History of the Diploid-Tetraploid Complex of *Knautia arvensis* (Dipsacaceae). *PLOS ONE* **2012**;7:e39988.

**Korbecka G, Rymer PD, Harris SA, Pannell JR.** Solving the Problem of Ambiguous Paralogy for Marker Loci: Microsatellite Markers with Diploid Inheritance in Allohexaploid *Mercurialis annua* (Euphorbiaceae). *Journal of Heredity* **2010**;101:504–511.

**Koutecký P, Badurová T, Štech M, Košnar J, Karásek J.** Hybridization between diploid *Centaurea pseudophrygia* and tetraploid *C. jacea* (Asteraceae): the role of mixed pollination, unreduced gametes, and mentor effects. *Biological Journal of the Linnean Society* **2011**;104:93–106.

**Kreiner JM, Kron P, Husband BC.** Frequency and maintenance of unreduced gametes in natural plant populations: associations with reproductive mode, life history and genome size. *New Phytologist* **2017**;214:879–889.

**Levin DA.** Polyploidy and Novelty in Flowering Plants. *The American Naturalist* **1983**;122:1–25.

**Levin DA.** Minority Cytotype Exclusion in Local Plant Populations. *Taxon* **1975**;24:35–43.

**Levin DA.** The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford: Oxford University Press; **2002**.

**Lumaret R, Guillermin J, Delay J, Loutfi A, Izco J, Jay M.** Polyploidy and Habitat Differentiation in *Dactylis-Glomerata* L from Galicia (Spain). *Oecologia* **1987**;73:436–446.

**Maceira N, Dehaan A, Lumaret R, Billon M, Delay J.** Production of 2n Gametes in Diploid Subspecies of *Dactylis-Glomerata* L .1. Occurrence and Frequency of 2n Pollen. *Annals of Botany* **1992**;69:335–343.

**Maceira N, Jacquard P, Lumaret R.** Competition Between Diploid and Derivative Autotetraploid *Dactylis-Glomerata* L from Galicia - Implications for the Establishment. *New Phytologist* **1993**;124:321–328.

**Martin SL, Husband BC.** Whole Genome Duplication Affects Evolvability of Flowering Time in an Autotetraploid Plant. *PLOS ONE* **2012**;7:e44784.

**McAllister C, Blaine R, Kron P, Bennett B, Garrett H, Kidson J, et al.** Environmental Correlates of Cytotype Distribution in *Andropogon Gerardii* (poaceae). *American Journal of Botany* **2015**;102:92–102.

**McAllister CA, Miller AJ.** Single nucleotide polymorphism discovery via genotyping by sequencing to assess population genetic structure and recurrent polyploidization in *Andropogon gerardii*. *American Journal of Botany* **2016**;103:1314–1325.

**Mráz P, Šingliarová B, Urfus T, Krahulec F.** Cyto geography of *Pilosella officinarum* (Compositae): Altitudinal and Longitudinal Differences in Ploidy Level Distribution in the Czech Republic and Slovakia and the General Pattern in Europe. *Annals of Botany* **2008**;101:59–71.

**Mráz P, Španiel S, Keller A, Bowmann G, Farkas A, Šingliarová B, et al.** Anthropogenic disturbance as a driver of microspatial and microhabitat segregation of cytotypes of *Centaurea stoebe* and cytotype interactions in secondary contact zones. *Annals of Botany* **2012**;110:615–627.

**Münzbergová Z.** No effect of ploidy level in plant response to competition in a common garden experiment. *Biological Journal of the Linnean Society* **2007**;92:211–219.

**Nghiem CQ, Harwood CE, Harbard JL, Griffin AR, Ha TH, Koutoulis A.** Floral phenology and morphology of colchicine-induced tetraploid *Acacia mangium* compared with diploid *A. mangium* and *A. auriculiformis*: implications for interploidy pollination. *Australian Journal of Botany* **2011**;59:582–592.

**Nuismer SL, Thompson JN.** Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **2001**;268:1937–1940.

**Peckert T, Chrtek J.** Mating Interactions Between Coexisting Diploid, Triploid and Tetraploid Cytotypes of *Hieracium Echioides* (Asteraceae). *Folia Geobotanica* **2006**;41:323–334.

**Petit C, Bretagnolle F, Felber F, Petit C, Bretagnolle F, Felber F.** Evolutionary consequences of diploid–polyploid hybrid zones in wild species. *Trends in Ecology & Evolution* **1999**;14:306–311.

**Petit C, Lesbros P, Ge XJ, Thompson JD.** Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity* **1997**;79:31–40.

**Raine NE, Chittka L.** Flower constancy and memory dynamics in bumblebees (Hymenoptera : Apidae : *Bombus*). *Entomologia Generalis* **2007**;29:179–199.

**Ramsey J.** Polyploidy and ecological adaptation in wild yarrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States* **2011**;108:7096–7101.

**Ramsey J, Schemske DW.** Pathways, Mechanisms, and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **1998**;29:467–501.

**Rausch JH, Morgan MT.** The effect of self-fertilization, inbreeding depression, and population size on autopolyploid establishment. *Evolution* **2005**;59:1867–1875.

**Rice A, Glick L, Abadi S, Einhorn M, Kopelman NM, Salman-Minkov A, et al.** The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist* **2015**;206:19–26.

**Roccaforte K, Russo SE, Pilson D.** Hybridization and reproductive isolation between diploid *Erythronium mesochoreum* and its tetraploid congener *E. albidum* (Liliaceae). *Evolution* **2015**;69:1375–1389.

**Rothera S, Davy A.** Polyploidy and Habitat Differentiation in *Deschampsia cespitosa*. *New Phytologist* **1986**;102:449–467.

**Schönswetter P, Lachmayer M, Lettner C, Prehler D, Rehnitz S, Reich DS, et al.** Sympatric diploid and hexaploid cytotypes of *Senecio carniolicus* (Asteraceae) in the Eastern Alps are separated along an altitudinal gradient. *Journal of Plant Research* **2007**;120:721–725.

**Segraves KA, Thompson JN.** Plant polyploidy and pollination: Floral traits and insect visits to diploid and tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* **1999**;53:1114–1127.

**Soltis DE, Albert VA, Leebens-Mack J, Bell CD, Paterson AH, Zheng C, et al.** Polyploidy and Angiosperm Diversification. *American Journal of Botany* **2009**;96:336–348.

**Sonnleitner M, Huelber K, Flatscher R, Garcia PE, Winkler M, Suda J, et al.** Ecological differentiation of diploid and polyploid cytotypes of *Senecio carniolicus* sensu lato (Asteraceae) is stronger in areas of sympatry. *Annals of Botany* **2016**;117:269–276.

**Sudová R, Rydlová J, Münzbergová Z, Suda J.** Ploidy-specific interactions of three host plants with arbuscular mycorrhizal fungi: Does genome copy number matter? *American Journal of Botany* **2010**;97:1798–1807.

**Těšitelová T, Jersáková J, Roy M, Kubátová B, Těšitel J, Urfus T, et al.** Ploidy-specific symbiotic interactions: divergence of mycorrhizal fungi between cytotypes of the *Gymnadenia conopsea* group (Orchidaceae). *New Phytologist* **2013**;199:1022–1033.

**Thompson JN, Merg KF.** Evolution of polyploidy and the diversification of plant–pollinator interactions. *Ecology* **2008**;89:2197–2206.

**Thompson SL, Whitton J.** Patterns of recurrent evolution and geographic parthenogenesis within apomictic polyploid Easter daises (*Townsendia hookeri*). *Molecular Ecology* **2006**;15:3389–3400.

**Trávníček P, Dočkalová Z, Rosenbaumová R, Kubátová B, Szeląg Z, Chrtek J.** Bridging global and microregional scales: ploidy distribution in *Pilosella echinoides* (Asteraceae) in central Europe. *Annals of Botany* **2011b**;107:443–454.

**Trávníček P, Eliášová A, Suda J.** The distribution of cytotypes of *Vicia cracca* in Central Europe: the changes that have occurred over the last four decades. *Preslia* **2010**;82:149–163.

**Trávníček P, Kubátová B, Čurn V, Rauchová J, Krajníková E, Jersáková J, et al.** Remarkable coexistence of multiple cytotypes of the *Gymnadenia conopsea* aggregate (the fragrant orchid): evidence from flow cytometry. *Annals of Botany* **2011a**;107:77–87.



**Weiss-Schneeweiss H, Emadzade K, Jang T-S, Schneeweiss GM.** Evolutionary Consequences, Constraints and Potential of Polyploidy in Plants. *Cytogenetic and Genome Research* **2013**;140:137–150.

**Wood TE, Takebayashi N, Barker MS, Mayrose I, Greenspoon PB, Rieseberg LH.** The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States* **2009**;106:13875–13879.